

Г.Қ. Абай<sup>1\*</sup>, У.Ч. Чоманов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Алматы Технологиялық университеті, Алматы, Қазақстан;

<sup>2</sup>Қазақ қайта өңдеу және тағам өнеркәсіптері ғылыми-зерттеу институты, Алматы, Қазақстан

Хат-хабарларға арналған автор: abay.gk@mail.ru

### **Лактобактерияларды дақылдауда қолданылатын қолайлы қоректік орта түрін анықтау**

Мақалада табиғи сүт өнімдерінен бөлініп алынған сүтқышқылды микроорганизмдердің дақылдануы үшін қолайлы, оңтайлы қоректік орта түрін анықтауға байланысты жүргізілген зерттеу жұмыстары берілген. Зерттеу объектілері ретінде лактобактериялардың таза белсенді дақылдары таңдап алынды. Қолайлы қоректік орта түрін анықтау мақсатында 5 түрлі стандартты және дифференциацияланған қоректік орта түрлері зерттелді. Олар MRS (de Man, Rogosa and Sharpe) қоректік ортасы, борлы агар, Эйкман сүтті агары, орамжапырақ агары, А.И. Нетрусов бойынша сүтқышқылды бактерияларға арналған сәбіз агары қоректік орталары. Зерттеу жұмысы үш түрлі қайталаным арқылы жүргізілді, нәтижесінде А.И. Нетрусов әдістемесі бойынша дайындалған сәбіз агары қатты қоректік ортасы бетінде өсіп шыққан сүтқышқылды микроорганизмдер саны  $3,3 \cdot 10^7$  КТБ,  $3,21 \cdot 10^7$  КТБ,  $3,05 \cdot 10^7$  КТБ құрап, биомасса жинақтау қарқындылығы жоғары екендігі белгілі болды. Қырыққабат агары және стандартты MRS қоректік орталарында да лактобактериялар салыстырмалы түрде жоғары өсу белсенділігін көрсетті. Ал борлы агар мен Эйкман сүтті агары қоректік орталарында биомасса жинақталу деңгейі басқа қоректік орталармен салыстырмалы түрде төмен екендігі анықталды. Сонымен қатар лактобактериялардың таза дақылдары аталған түрлі қоректік орталарда әр түрлі өсу ерекшелігін көрсетіп — тұнба түзу, қатты қоректік орта бетінде майда ақ түсті колониялар түзу, колония айналасында мөлдірлену зонасын түзу арқылы өсетіндігі белгілі болды. Мұндай ерекшеліктер қоректік орта құрамына және лактобактерия штаммының физиологиялық ерекшеліктеріне байланысты.

*Кілт сөздер:* лактобактериялар, қоректік орталар, MRS, борлы агар, Эйкман сүтті агары, орамжапырақ агары, А.И. Нетрусов бойынша сүтқышқылды бактерияларға арналған сәбіз агары, дақылдау.

#### *Kipicne*

Лактобактериялар көптеген аминқышқылдар, пуриндар мен пиримидиндер қатары, дәрумендер тобы бойынша ауқотрофты микроорганизмдерге жататындықтан жасанды қоректік орталарға қатысты талаптары жоғары. Тіршілік процесі үшін бұл ағзалар қоректік орта құрамында бактериалдық клетканың құрылуы үшін қажетті заттар мен энергия көздері субстраттарының болуын қажет етеді. Сүтқышқылды микроорганизмдер өсуі үшін қоректік орталарға ашытқы экстракты, твин-80, ашытқы автолизаты секілді құрамында белоктың еритін құнды формалары бар қоспалар қосылуы шарт [1]. Бірқатар зерттеу нәтижелері бойынша кейбір пептидтер мен аминқышқылдар (тұзқышқылды L-аргинин, тұзқышқылды цистеин) сүтқышқылды бактериялардың өсуін жоғарылататындығы белгілі болған [2]. Лактобактериялар клеткаларының дұрыс қалыптасуы үшін белоктың қолжетімді формасының (пептидтер, аминқышқылдар) болуы маңызды, бұл мақсатта түрлі протеолитикалық ферменттер қолданылады. Белоктың гидролиздену өнімдерінен бөлек нативті белоктың өзі клетка дақылдарының құрылуына қызмет жасайды [3].

Лактобактериялардың көптеген түрлерінің дамуында дәрумендер басты қызмет атқарады. Бұл жасанды қоректік орталар құрамына түрлі экстракттар (ашытқы, жүгері, картоп, сәбіз экстракттары) мен басқа да қосындылар енгізгеннен кейінгі клеткалар өсімінің жоғарылуымен түсіндіріледі. Ғылыми зерттеу жұмыстарының нәтижелері бойынша болгар таяқшасының өсуі үшін никотин қышқылы (B5), пантотенат (B3) және рибофлавин (B2), яғни В тобының дәрумендері қажет екендігі нақтыланған. Орта құрамында микромагний мен марганецтің болуы клеткалар өсіміне оң әсер етеді делінген. Марганец клеткалардың автолизденуін тежейді және қалыпты май алмасу процестері үшін қажетті. Қоректік орта құрамында жеткілікті мөлшерде темір тұздарының болуы сүтқышқылды микроорганизмдер клеткаларының қалыпты дамуы үшін маңызды екендігі анықталған. Бірқатар еңбектерде марганец және/немесе темір қосындыларының болмауы салдарынан лактобактериялар клеткалары мүлдем өспей қалатындығы дәлелденген. Сондықтан лактобактериялар дақылдарының қалыпты өсуі үшін қоректік орта энергия көздерімен және конструктивті метаболизмге қажетті барлық құрамбөліктермен қамтамасыз етуі шарт [4].

Лактобактериялардың дақылдануында пайдаланылатын қоректік орталардың бірқатар тізімі белгілі, алайда жасанды қоректік орталардың барлығы дерлік лактобактериялардың қоректік қажеттіліктерін орындай алмайды. Сүтқышқылды микроорганизмдерді дақылдау барысында қолданылатын қоректік орталардың ішінде ең оңтайлысы болып микроорганизм клеткасына оңай сіңірілетін формадағы, тағамдық құндылығы жоғары, өсуді стимулдейтін заттармен қамтамасыз етілетін, азоттық, көмірсулық және дәрумендік құрамы бойынша теңгерілген қоректік орта есептеледі.

*Lactobacillus* туысының өкілдері үшін қоректік орта құрамында өздері синтездей алмайтын пептидтер көзі болып табылатын азоттың күрделі органикалық формаларының болуы маңызды. Себебі пептидтер бос аминқышқылдарына қарағанда клетка өсуін эффективті стимулдейді. Пептидтер аминқышқылдарын бактерия клеткасына оңай сіңірілетін және зақымдалудан сақталған формада жеткізіп отырады. Органикалық азот жетіспеген жағдайда органикалық қосылыстарды синтездеу үшін лактобактериялар азоттың минералды қосылыстарын тұтынады. Құрамы бойынша күрделі қоректік орталарда кейбір сүтқышқылды бактериялар өсуін аммоний тұздары стимулдейтіндігі белгілі [5-7].

Сүтқышқылды бактериялар үшін маңызды энергия көзі ретінде моно- және дисахаридтер — глюкоза, лактоза, сахароза, мальтоза қызмет атқарады. Сонымен қатар клетканың тіршілік процесі үшін аргинин, цистеин, глутамин қышқылы, лейцин, фенилаланин, триптофан, тирозин, валин секілді аминқышқылдардың орындайтын функциясы ерекше.

Дәстүрлі жағдайда сүтқышқылды микроорганизмдер майсыздандырылған стерильді сүтте дақылданып, сақталатындығы белгілі, дегенмен құрғақ бактериалдық концентраттар жасау барысында дақылдау ортасы ретінде майсыздандырылған стерильді сүтті пайдалану технологиялық тұрғыда қолайсыз.

Арнайы қоректік орталардың ішінде кең қолданысқа ие болған түрі — MRS қоректік ортасы. Қоректік орта тағамдық құндылығы жоғары құрам-бөліктеріне және өсу факторларына бай, лактобактериялардың зат алмасуына қажетті ашытқы және ет экстракттарынан, пептон, натрий ацетаты, аммоний цитраты, май қышқылдарының көзі — твин-80 және глюкозадан құралған. Орта қышқылдылығы — 6,2-6,4. MRS қоректік ортасы пробиотикалық лактобактериялармен жұмыс үшін және тағам өнімдері мен табиғи биотоптардан бұл микроорганизм түрлерін бөліп алу мақсатында да пайдаланылады [8-11].

Сонымен қатар лактобактерияларды дақылдауға арналған, биомасса жинақтау көрсеткіші жоғары бірқатар қоректік орталар түрі белгілі. Олар — гидролизденген сүт, борлы агар, Эйкман сүтті агары, орамжапырақ немесе сәбіз экстрактында дайындалған қоректік агарлы орта, Сабуро, сүтқышқылды микроорганизмдерді дақылдауға арналған арнайы дифференсацияланған қоректік орталар және т.б. [12-14].

Қазіргі таңда сүтқышқылды микроорганизмдерді өсіру үшін қажетті қоректік орталарды арнайы шолуға, салыстырмалы талдауға бағытталған ғылыми жұмыстар шеңбері күн санап арту үстінде. Себебі элективті қоректік орталардың кейбір түрлерінде басқа қоректік орталарда болмайтын немесе аз кездесетін құрам-бөліктер бар болса, кейбіреулерінде керісінше болады. Бірқатар зерттеушілердің жұмысы арнайы қоректік орта түрін ойлап табуға немесе осы уақытқа дейін белгілі қоректік ортаның кейбір құрам-бөліктерін модификациялау арқылы өзгерістер ендіруге бағытталған. Бұл мәліметтердің барлығы сүтқышқылды микроорганизмдердің адам организмі үшін маңызды қызмет атқаратындығына байланысты өзектілігі жоғалмайды. Сүтқышқылды бактериялар адамның асқазан-ішек жолының

маңызды қалыпты микробиота өкілдері. Организмнің асқазан-ішек жолында лактобактериялардың клетка санының азаюы немесе болмауы күрделі дисфункциялық жағдайларға алып келуі мүмкін.

Жұмыстың мақсаты — лактобактериялардың таза дақылдарының тіршілік процесіне қолайлы қоректік орта түрін таңдау.

#### *Зерттеу материалдары мен әдістері*

Жұмыстың зерттеу объектілері ретінде лактобактериялардың таза дақылдары таңдап алынды.

Лактобактерия дақылдарының әр түрлі қоректік орталарда өсу ерекшеліктерін анықтау мақсатында клеткаларды бірнеше қоректік орталарға егіп, өсіру көзделді:

- майсыздандырылған стерильді сүт;
- MRS қоректік ортасы;
- гидролизденген сүт — майсыздандырылған сүт пен құбыр суының қоспасына панкреатин немесе ұйқы безінің ұнтағын қосу арқылы дайындалатын орта. Біршама уақыттан соң қоспаға хлороформ енгізіледі;

- борлы агар — қоректік агарға бор ( $\text{CaCO}_3$ ) қосу арқылы дайындалатын қоректік орта;
- Эйкман сүтті агарлы ортасы — лактобактериялардың протеолитикалық белсенділігін зерттеу мақсатында қоректік агарға стерильді майсыздандырылған сүт қосу арқылы дайындалатын орта;
- қырыққабат агары — қырыққабат қайнатпасына пептон, глюкоза,  $\text{CaCO}_3$  және агар қосылып дайындалатын қатты қоректік орта;

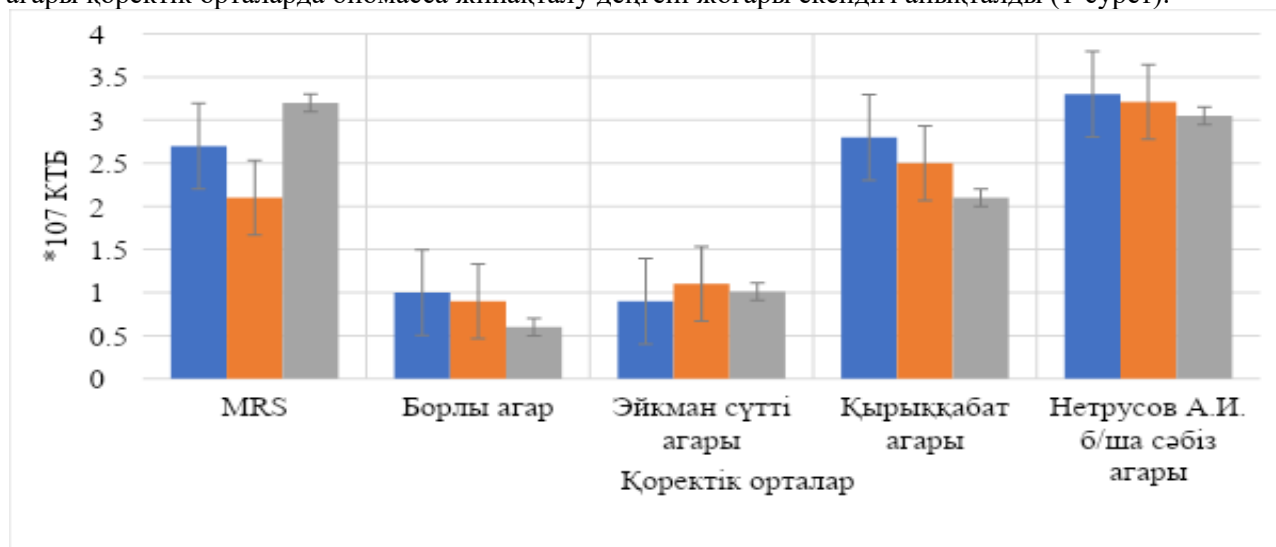
- А.И. Нетрусов әдістемесі бойынша сәбіз немесе қырыққабат қайнатпасына ашытқы автолизаты, пептон, глюкоза,  $\text{CaCO}_3$  және агар қосылып дайындалатын қатты қоректік орта.

Сүтқышқылды микроорганизмдер  $37^\circ\text{C}$  -та 24-36 сағат бойы дақылданды. Зерттеу нәтижелері сырт көзбен және микроскопиялық әдістер арқылы анықталды. Стерильділікті тексеру мақсатында ЕПА (ет-пептонды агар) және ЕПС (ет-пептонды сорпа) қоректік орталары қолданылды. Дайын қоректік орталар автоклавта 30 минут бойы  $1,5\text{A}$  қысымда стерилизацияланды. Лактобактерия клеткаларын егу және қайта егу жұмыстары дәстүрлі микробиологиялық әдістердің көмегімен жүргізілді.

#### *Зерттеу нәтижелері және оны талдау*

Сүтқышқылды микроорганизмдер дақылдарының әр түрлі қоректік орталарда өсу ерекшелігін зертеу мақсатында бес түрлі қатты қоректік орталар таңдап алынды: MRS, борлы агар, Эйкман сүтті агары, орамжапырақ агары, А.И. Нетрусов бойынша сүтқышқылды бактерияларға арналған сәбіз агары қоректік ортасы. Оңтайлы қоректі орта Петри табақшасындағы агарлы ортаның бетіне лактобактерия колонияларының өсу көрсеткішінің жоғары болуымен анықталды.

Зерттеу жұмысының аралық қорытындысы бойынша борлы агар мен Эйкман сүтті агарлы қоректік орталарында басқа орталармен салыстырғанда биомасса жинақталуы аз екендігі белгілі болды. Ал MRS, қырыққабат агары, А.И. Нетрусов бойынша сүтқышқылды бактерияларға арналған сәбіз агары қоректік орталарда биомасса жинақталу деңгейі жоғары екендігі анықталды (1-сурет).

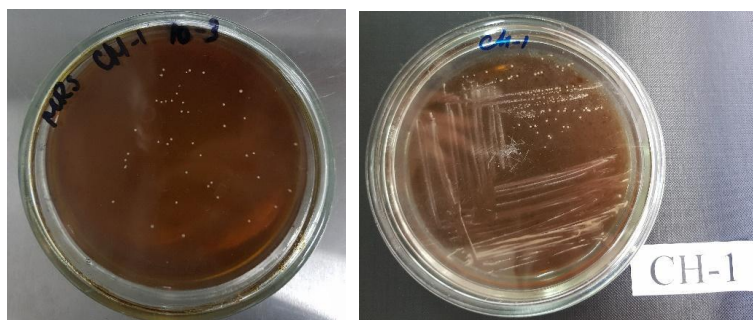


1-сурет. СҚБ түрлі қоректік орталарда биомасса жинақтау белсенділігі

Суретте сүтқышқылды бактериялардың түрлі қоректік орталарда өсу белсенділігі колония түзу бірлігімен көрсетілген. Сандық мәндер бойынша жоғары өсім көрсеткіші А.И. Нетрусов бойынша сәбіз ағары қоректік ортасында екендігі анықталды. Үш түрлі қайталаным арқылы жасалған зерттеу жұмысында А.И. Нетрусов әдістемесі бойынша дайындалған сәбіз ағары қатты қоректік ортасы бетінде өсіп шыққан лактобактериялар саны  $3,3 \cdot 10^7$  КТБ,  $3,21 \cdot 10^7$  КТБ,  $3,05 \cdot 10^7$  КТБ құрап, жоғары көрсеткіш көрсеткендігі белгілі болды. Қырыққабат ағары және стандартты MRS қоректік орталарында да лактобактериялар салыстырмалы түрде жоғары өсу белсенділігін көрсетті.

Сүтқышқылды микроорганизмдердің түрлі қоректік орталарда өсу ерекшеліктері әр алуан. Кейбір қоректік орталарда ақ майда тегіс колониялар түзіп өсетін болса, тағы бір түрлерінде қоректік орта түрін, түсін өзгерте отырып колониялар түзеді. Бұл қасиеттері қоректік орта құрам-бөліктері мен лактобактериялардың физиологиялық-биохимиялық ерекшеліктерімен тікелей байланысты.

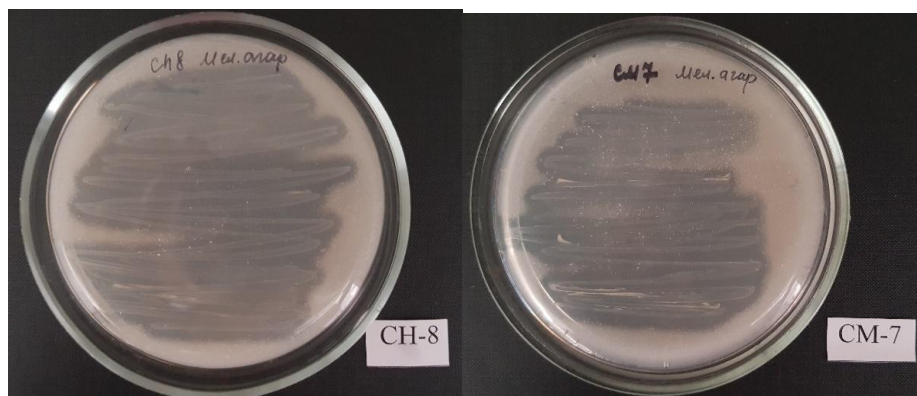
Лактобактериялардың қоректік орталарда өсу ерекшеліктерін анықтау мақсатында жоғарыда аталған қоректік орталар қолданылды. MRS қоректік ортасында лактобактерия дақылдары ақ-ақшыл мөлдір түсті, беті тегіс, кейде дөңес келетін, шеттері тегіс, кей жағдайда иректеліп келетін, жылтыр емес немесе жылтыр болатын майда, ұсақ колониялар түзеді (2-сурет).



2-сурет. Сүтқышқылды бактериялардың MRS қоректік ортасында өсу ерекшеліктері

2-суретте лактобактериялар колонияларының физиологиялық ерекшеліктері айқын бейнеленген. MRS стандартты қоректік ортасы лактобактерияларды дақылдау жұмыстарында кеңінен қолданылады. Қоректік орта қатты, жартылай қатты және сұйық түрде қолданылады. Қатты қоректік ортада колониялар ағар бетінде өсетін болса, жартылай қатты MRS қоректік ортасы көп жағдайда тек пробиркаларға құйылады. Дақылдау укол әдісімен жүргізіледі. Клеткалардың өсуі пробирка бойымен бақыланады. Қоректік ортаның бұл түрі көп жағдайда дақылды сақтау мақсатында пайдаланылады. Сұйық қоректік ортада дақылдың өскендігі тұнбалану деңгейі арқылы анықталады.

Борлы ағар қоректік ортасының құрамына глюкоза, ашытқы экстракты,  $\text{CaCO}_3$ , ағар кіреді. Қоректік ортаны дайындау үшін аталған құрам-бөліктер дистилденген сумен араластырылады. Қатты қоректік ортаның бетіне лактобактериялар егіліп, дақылданады. 3-суретте борлы ағар қоректік ортасында өсіп шыққан сүтқышқылды бактериялар дақылдарының өсу ерекшеліктері бейнеленген. Лактобактериялар дақылдарының айналасында мөлдірлену зонасының болғандығын байқауға болады (3-сурет).



3-сурет. Сүтқышқылды бактериялардың борлы ағар қоректік ортасында өсу ерекшеліктері



Келесі зерттелетін қоректік орта — Эйкман сүтті агары. Эйкман сүтті агарының құрамында пептон, натрий хлориді, глюкоза және агар бар. Аталған құрам-бөліктерді дистилденген сумен араластырып, стерилдеп болған соң қоспаға асептика заңдылықтарын сақтай отырып, майсыздандырылған стерилді сүтті қосып араластырады. Сүтті агарлы орта қатқан соң егу жұмыстары жүргізіледі (4-сурет).



4-сурет. Сүтқышқылды бактериялардың Эйкман сүтті агарлы қоректік ортасында өсу ерекшеліктері

4-суретте Эйкман сүтті агарлы қоректік ортасында өсіп шыққан лактобактериялардың өсу ерекшелігі көрсетілген. Қоректік орта лактобактерия дақылдарының протеолитикалық белсенділігін анықтау мақсатында қолданылады. Сүт казеинінің пептонизациялану белсенділігі өсіп шыққан колония айналасындағы мөлдірлену зонасының болуымен түсіндіріледі.

Қырыққабат агары және А.И. Нетрусов бойынша сәбіз агары қоректік орталары лактобактерияларды дақылдау барысында жоғары нәтиже көрсетті. Қоректік орталарда СҚМ дақылдарының биомасса жинақтау қабілеттелігінің жоғары екендігі анықталды. Бұл қоректік орта құрамы компоненттерінің лактобактериялар клеткалары үшін тағамдық құндылығының жоғарылығымен түсіндіріледі. Бұл орталар құрамына пептон, глюкоза, ашытқы экстракты, агар түрлі қатынаста берілген. Аталған қоректік орталарда лактобактериялардың өсу ерекшеліктері келесі суретте бейнеленген (5-сурет).



5-сурет. Сүтқышқылды бактериялардың қырыққабат агары және А.И. Нетрусов бойынша сәбіз агары қоректік орталарында қоректік ортасында өсу ерекшеліктері

Қырыққабат агары мен А.И. Нетрусов бойынша сәбіз агары қоректік орталарында сүтқышқылды бактериялар колонияларының айналасында айқын мөлдірлену зонасы болады, бұл ерекшелік ерітілмеген кальций көміртегінің еріген кальций лактатына айналуына байланысты деп түсіндіріледі.

## Қорытынды

Зерттеу жұмысы барысында сүтқышқылды микроорганизмдердің бес түрлі қоректік орталарда дақылдану, өсу ерекшеліктері, әр қоректік орталарда биомасса жинақтау қабілетіліктері зерттелді. Зерттеу нәтижесі бойынша лактобактериялар дақылдары үшін қолайлы қоректік орта болып MRS, қырыққабат ағары, А.И. Нетрусов бойынша сүтқышқылды бактерияларға арналған сәбіз ағары қоректік орталары танылды. Ең жоғары көрсеткішті А.И. Нетрусов әдістемесі бойынша дайындалған сәбіз ағары қатты қоректік ортасы көрсетті, ағар бетінде өсіп шыққан лактобактериялар саны  $3,3 \cdot 10^7$  КТБ,  $3,21 \cdot 10^7$  КТБ,  $3,05 \cdot 10^7$  КТБ құрады.

Жұмыс барысында аталған қоректік орта бетінде лактобактерия штамдарының дақылдану ерекшеліктері зерттелді. Сүтқышқылды бактериялар ортада тұнба түзу, қатты қоректік орта бетінде майда ақ түсті колониялар түзу, колония айналасында мөлдірлену зонасын түзу арқылы өсетіндігі белгілі болды. Бұл қасиет қоректік орта құрамына және лактобактерия штамының физиологиялық ерекшеліктеріне тікелей байланысты екендігі белгілі.

Зерттеу жұмысының нәтижесінде алынған мәліметтер лактобактериялардың консорциумы негізінде функционалды бағыттағы сүт өнімін алу мақсатында СҚБ клеткаларын дақылдауда ескеріледі және қолданылады.

## Әдебиеттер тізімі

- 1 Степаненко П.П. Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии молока и молочных продуктов / П.П. Степаненко. — М., 2005. — 653 с.
- 2 Практикум по микробиологии: учеб. пос. для студ. высш. учеб. завед. — М.: Изд. центр «Академия», 2005. — 608 с.
- 3 Дзержинская И.С. Питательные среды для выделения и культивирования микроорганизмов: учеб. пос. / И.С. Дзержинская. — Астрахань: Изд-во Алтай. гос. ун-та, 2008. — 348 с.
- 4 Конькова Н.К. Пути усовершенствования питательных сред, используемых в технологии производства медицинских и ветеринарных пробиотиков: автореф. дис. ... канд. биол. наук. 030007 — «Микробиология» / Н.К. Конькова. — Н. Новгород, 2002. — 21 с.
- 5 Jeong E. Development of cabbage juice medium for industrial production of *Leuconostoc mesenteroides* starter / E. Jeong, D. Moon, O.J. Suk, J.S. Moon, H. Seong, K.K. Yup, S.H. Nam // *Food Microbiology and Biotechnology*. — 2017. — Vol. 27. — P. 2112-2118. <https://doi.org/10.4014/jmb.1708.08050>.
- 6 Berecka M.P. Optimization of medium composition for enhancing growth of *Lactobacillus rhamnosus* PEN using response surface methodology / M.P. Berecka, A. Wasko, M. Wiater, M. Podlesny, Z. Targonski, A. Kubik-Komar // *Polish Journal of Microbiology*. — 2010. — Vol. 59. — P. 113-118.
- 7 Li C. Optimization of a cultural medium for bacteriocin production by *Lactococcus lactis* using response surface methodology / C. Li, J. Bai, Z. Cai, F. Ouyang // *Journal of Biotechnology*. — 2002. — Vol. 93. — P. 27-34. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(01\)00377-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(01)00377-7).
- 8 Renschler M.A. Using nitrous acid-modified de Man, Rogosa, and Sharpe medium to selectively isolate and culture lactic acid bacteria from dairy foods / M.A. Renschler, A. Wyatt, N. Anene, R. Robinson-Hill, E.S. Pickerill, N.E. Fox, J.A. Griffith, J.L. McKillip // *Journal of dairy science*. — 2020. — Vol. 103 (2). — P. 1215-1222. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17041>.
- 9 Meng H.Y. Formation of 3-Methylbutanal and 3-Methylbutan-1-ol Recognized as Malty during Fermentation in Swiss Raclette-Type Cheese, Reconstituted Milk, and de Man, Rogosa, and Sharpe Broth / H.Y. Meng, M. Piccand, P. Fuchsman, S. Dubois, A. Baumeier, M. Stern, A. von Ueli // *Journal of agricultural and food chemistry*. — 2021. — Vol. 69 (2). — P. 717-729. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c06570>
- 10 Pyar H. Cost effectiveness of cryoprotective agents and modified De-man Rogosa Sharpe medium on growth of *Lactobacillus acidophilus* / H. Pyar, K. Peh // *Pakistan journal of biological sciences*. — 2014. — Vol. 17(4). — P. 462-471. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2014.462.471>
- 11 Bove C.G. Metabolic and proteomic adaptation of *Lactobacillus rhamnosus* strains during growth under cheese-like environmental conditions compared to de Man, Rogosa, and Sharpe medium / C.G. Bove, M. De Angelis, M. Gatti, M. Calasso, E. Neviani, M. Gobbetti // *Proteomics*. — 2012. — Vol. 12(21). — P. 3206-3218. <https://doi.org/10.1002/pmic.201200157>
- 12 Oyeniran A. A modified reinforced clostridial medium for the isolation and enumeration of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* in a mixed culture / A. Oyeniran, S.A. Ibrahim, R. Gyawali, R. Tahergorabi, T. Zimmerman, A. Krastanov // *Journal of dairy science*. — 2020. — Vol. 103(6). — P. 5030-5042. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17894>
- 13 Gardner N.J. Selection and characterization of mixed starter cultures for lactic acid fermentation of carrot, cabbage, beet and onion vegetable mixtures / N.J. Gardner, T. Savard, P. Obermeier, G. Caldwell, C.P. Champagne // *International journal of food microbiology*. — 2001. — Vol. 64(3). — P. 261-275. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00461-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00461-X)
- 14 Nwamaioha N.O. A selective medium for the enumeration and differentiation of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* / N.O. Nwamaioha, S.A. Ibrahim // *Journal of dairy science*. — 2018. — Vol. 101(6). — P. 4953-4961. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14155>

Г.Қ. Абай, У.Ч. Чоманов

## Определение оптимальной питательной среды для культивирования лактобактерий

В статье приведены результаты исследования по определению оптимальной питательной среды для культивирования лактобактерий. Объектами исследования выбраны чистые, активные штаммы молочнокислых микроорганизмов. С целью определения оптимальной питательной среды штаммов лактобактерий были изучены пять разных стандартных и дифференцированных питательных сред: среда MRS, меловой агар, молочный агар Эйкмана, капустный агар, морковный агар для культивирования лактобактерий по А.И. Нетрусову. В результате исследований на морковном агаре для культивирования лактобактерий по А.И. Нетрусову рост молочнокислых бактерий составил  $3,3 \cdot 10^7$  КТБ;  $3,21 \cdot 10^7$  КТБ;  $3,05 \cdot 10^7$  КОЕ; тем самым показал высокий результат. Выявлено, что на капустном агаре и среде MRS штаммы молочнокислых бактерий растут хорошо, наименьший рост наблюдался на меловом агаре и молочном агаре Эйкмана. Кроме того, исследованы особенности роста культур лактобактерий на данных средах, определено, что при росте на разных средах культуры лактобактерий образуют муть и заметны зоны просветления вокруг колонии. Данные особенности связаны с составом питательной среды и физиологическим характером штамма.

*Ключевые слова:* лактобактерия, питательные среды, MRS, меловой агар, молочный агар Эйкмана, капустный агар, морковный агар для культивирования лактобактерий по А.И. Нетрусову, культивирование.

G.K. Abay, U.Ch. Chomanov

## Determination of the optimal nutrient medium for the cultivation of lactobacteria strains

This article presents the results of a study to determine the optimal nutrient medium for the cultivation of lactobacteria. The objects of the study were selected pure, active strains of lactic acid microorganisms. In order to determine the optimal nutrient medium of lactobacillus strains, 5 different standard and differentiated nutrient media were studied – MRS medium, chalk agar, Eikman milk agar, cabbage agar, carrot agar for the cultivation of lactobacteria according to A.I. Netrusov. As a result of studies on carrot agar for the cultivation of lactobacteria according to A.I. Netrusov, the growth of lactic acid bacteria was  $3.3 \cdot 10^7$  CFU,  $3.21 \cdot 10^7$  CFU,  $3.05 \cdot 10^7$  CFU, thereby showing a high result. It was revealed that strains of lactic acid bacteria grow well on cabbage agar and MRS medium, the smallest growth was on chalk agar and Eikman milk agar. The peculiarities of the growth of lactobacillus cultures on these media were also investigated, it was revealed that when lactobacillus cultures grow on these media, they form turbidity and enlightenment zones around the colony are observed. These features are related to the composition of the nutrient medium and the physiological nature of the strain.

*Keywords:* lactobacillus, nutrient media, MRS, chalk agar, Eikman milk agar, cabbage agar, carrot agar for the cultivation of lactobacteria according to A.I. Netrusov, cultivation.

### References

- 1 Stepanenko, P.P. (2005). Rukovodstvo k laboratornym zaniatiim po mikrobiologii moloka i molochnykh produktov [Guide to laboratory studies on the microbiology of milk and dairy products]. Moscow [in Russian].
- 2 (2005). Praktikum po mikrobiologii. Uchebnoe posobie dlia studentov vysshikh uchebnykh zavedenii [Workshop on Microbiology. Guide for students of higher institutions]. Moscow: Izdatelskii tsentr «Akademiia» [in Russian].
- 3 Dzerzhinskaia, I.S. (2008). Pitatelnye sredy dlia vydeleniia i kultivirovaniia mikroorganizmov: uchebnoe posobie [Nutrient media for the isolation and cultivation of microorganisms: textbook]. Astrakhan: Izdatelstvo Astrakhanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta [in Russian].
- 4 Konkova, N.K. (2002). Puti usovershenstvovaniia pitatelnykh sred, ispolzuemykh v tekhnologii proizvodstva meditsinskikh i veterinarnykh probiotikov [Ways to improve nutrient media used in the production technology of medical and veterinary probiotics]. *Extended abstract of candidate's thesis*. Nizhnii Novgorod [in Russian].
- 5 Jeong, E., Moon, D., Suk, O.J., Moon, J.S., Seong, H., Yup, K.K. & Nam, S.H. (2017). Development of cabbage juice medium for industrial production of *Leuconostoc mesenteroides* starter. *Food Microbiology and Biotechnology*, 27; 2112-2118. <https://doi.org/10.4014/jmb.1708.08050>.

- 6 Berecka, M.P., Wasko, A., Wiater, M., Podlesny, M., Targonski, Z. & Kubik-Komar, A. (2010). Optimization of medium composition for enhancing growth of *Lactobacillus rhamnosus* PEN using response surface methodology. *Polish Journal of Microbiology*, 59, 113-118.
- 7 Li, C., Bai, J., Cai, Z. & Ouyang, F. (2002). Optimization of a cultural medium for bacteriocin production by *Lactococcus lactis* using response surface methodology. *Journal of Biotechnology*, 93, 27-34. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(01\)00377-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(01)00377-7).
- 8 Renschler, M.A., Wyatt, A., Anene, N., Robinson-Hill, R., Pickerill, E. S., Fox, N. E., Griffith, J.A. & McKillip, J.L. (2020). Using nitrous acid-modified de Man, Rogosa, and Sharpe medium to selectively isolate and culture lactic acid bacteria from dairy foods. *Journal of dairy science*, 103(2), 1215-1222. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17041>.
- 9 Meng, H.Y., Piccand, M., Fuchsmann, P., Dubois, S., Baumeyer, A., Stern, M. & von Ueli, A. (2021). Formation of 3-Methylbutanal and 3-Methylbutan-1-ol Recognized as Malty during Fermentation in Swiss Raclette-Type Cheese, Reconstituted Milk, and de Man, Rogosa, and Sharpe Broth. *Journal of agricultural and food chemistry*, 69(2); 717-729. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c06570>.
- 10 Pyar, H. & Peh, K. (2014). Cost effectiveness of cryoprotective agents and modified De-man Rogosa Sharpe medium on growth of *Lactobacillus acidophilus*. *Pakistan journal of biological sciences*, 17(4), 462-471. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2014.462.471>.
- 11 Bove, C.G., De Angelis, M., Gatti, M., Calasso, M., Neviani, E. & Gobetti, M. (2012). Metabolic and proteomic adaptation of *Lactobacillus rhamnosus* strains during growth under cheese-like environmental conditions compared to de Man, Rogosa, and Sharpe medium. *Proteomics*, 12 (21), 3206-3218. <https://doi.org/10.1002/pmic.201200157>.
- 12 Oyeniran, A., Ibrahim, S.A., Gyawali, R., Tahergorabi, R., Zimmerman, T. & Krastanov, A. (2020). A modified reinforced clostridial medium for the isolation and enumeration of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* in a mixed culture. *Journal of dairy science*, 103(6), 5030-5042. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17894>.
- 13 Gardner, N.J., Savard, T., Obermeier, P., Caldwell, G. & Champagne, C.P. (2001). Selection and characterization of mixed starter cultures for lactic acid fermentation of carrot, cabbage, beet and onion vegetable mixtures. *International journal of food microbiology*, 64(3), 261-275. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00461-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00461-X).
- 14 Nwamaioha, N.O. & Ibrahim, S.A. (2018). A selective medium for the enumeration and differentiation of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus*. *Journal of dairy science*, 101(6); 4953-4961. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14155>.